

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ

(19) ВУ (11) 11400

(13) С1

(46) 2008.12.30

(51) МПК (2006)
G 02B 21/34

(54)

СПОСОБ ПОДГОТОВКИ ПРЕДМЕТНЫХ СТЕКОЛ ДЛЯ ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

(21) Номер заявки: а 20060985

(22) 2006.10.09

(43) 2008.06.30

(71) Заявитель: Учреждение образования
"Гомельский государственный ме-
дицинский университет" (ВУ)

(72) Авторы: Надыров Эльдар Аркадь-
евич; Никонович Сергей Николаевич
(ВУ)

(73) Патентообладатель: Учреждение обра-
зования "Гомельский государственный
медицинский университет" (ВУ)

(56) Immunohistochemistry. Catalog 1996-
1997. Immunotech. A Coulter company,
1996, с.64.

Обработка стекол для микроскопии.
Найдено на http://web.archive.org/web/20051111060045/http://www.molbiol.ru/protocol/20_01.html.

US 5411894 А, 1995.

US 5492837 А, 1996.

(57)

Способ подготовки предметных стекол для цитологических исследований, включающий погружение стекол в водный раствор хромокалиевых квасцов и сушку, **отличающийся** тем, что используют раствор, полученный путем растворения 1,0-1,3 г агарозы в 500 мл воды, нагрева до 100 °С с добавлением 0,25-0,50 г хромокалиевых квасцов при постоянном помешивании, добавления 50-100 мг тимола и фильтрации, предметные стекла, предварительно обезжиренные и высушенные, погружают в нагретый раствор на 1-2 сек и сушат в вертикальном положении при комнатной температуре не менее часа.

Изобретение относится к медицине, а именно к клинической лабораторной диагностике, и может быть использовано для приготовления мазков-отпечатков, в том числе и для срочного интраоперационного исследования в практике клинической цитологии.

Для приготовления мазков-отпечатков используют обычные предметные стекла, которые перед использованием обезжиривают в жидкости Никофорова при комнатной температуре [1].

Недостатками являются:

отсутствие гистотопографических соотношений изучаемых морфологических структур в мазке-отпечатке, так как к стеклу в первую очередь прикрепляются клетки и неклоточные структуры, имеющие наименьшие межмолекулярные связи;

низкая информативность способа для диагностики злокачественных и доброкачественных опухолей с преобладанием фиброзного компонента;

"смывание" части материала с поверхности предметного стекла при фиксации и окрашивании в растворах красителей, что значительно ухудшает качество цитологических препаратов;

BY 11400 C1 2008.12.30

меньшая информативность при сравнении с гистологическими методами исследования.

Известен способ подготовки предметных стекол, который применяется при иммуногистохимических исследованиях. Его суть заключается в покрытии предметных стекол адгезивами, к которым относятся органосилан, поли- β -лизин или растворы, включающие в свой состав желатин. Согласно этому способу готовят раствор из 2,5 г желатина, 2,0 г калийхромовых квасцов и 500 мл дистиллированной воды, полученный раствор нагревают до 60 °С при постоянном помешивании, фильтруют, предметные стекла, предварительно обезжиренные и высушенные, погружают в раствор на 1-2 сек, сушат в вертикальном положении при комнатной температуре [2]. Недостатками прототипа являются:

- дополнительное фоновое окрашивание мазка-отпечатка;
- высокая стоимость реактивов;
- поддержание постоянной температуры 60 °С трудновыполнимо;
- приготовленный раствор требует хранения в герметичной емкости при температуре + 4 °С и не более 3 месяцев;

Задача, на решение которой направлено предполагаемое изобретение, состоит в создании способа подготовки предметных стекол для цитологических исследований, обеспечивающего надежную и прочную фиксацию клеток и неклеточных структур из исследуемого очага на предметном стекле с целью определения характера патологического процесса.

Задача решается за счет того, что способ подготовки предметных стекол для цитологических исследований, включающий погружение стекол в водный раствор хромокалиевых квасцов и сушку, причем используют раствор, полученный путем растворения 1,0-1,3 г агарозы в 500 мл воды, нагрева до 100 °С с добавлением 0,25-0,50 г хромокалиевых квасцов при постоянном помешивании, добавления 50-100 мг тимола и фильтрации, предметные стекла, предварительно обезжиренные и высушенные, погружают в нагретый раствор на 1-2 сек и сушат в вертикальном положении при комнатной температуре не менее часа.

Приготовленный раствор без изменения свойств может храниться в герметичной таре не менее 10-12 месяцев.

Для приготовления мазков-отпечатков с операционного материала предметные стекла прикладывают к патологическому очагу. При этом на стекле остаются отпечатки приставших к нему клеток и неклеточных структур с частичным сохранением их гистотопографических соотношений, что особенно важно при экспресс-диагностике злокачественных опухолей с преобладанием фиброзного компонента. Далее предметные стекла высушивают, фиксируют по общепринятым методикам и окрашивают различными красителями, после чего выполняют цитологический анализ материала и постановку диагноза.

Пример:

Первоначально к 500 мл дистиллированной воды добавили навеску агарозы массой 1,3 г. Раствор нагрели до температуры 100 °С до полного растворения агарозы при постоянном помешивании стеклянной палочкой, в раствор добавили 0,4 г хромокалиевых квасцов, перемешивали до полного растворения квасцов. После чего добавили 75 мг тимола, размешали и отфильтровали раствор с использованием бумажного фильтра. Стекла, предварительно обезжиренные спирто-эфирной смесью, и высушенные окунали в свежеприготовленный раствор после чего высушили в вертикальном положении в течение 2 часов при комнатной температуре. Приготовленные предлагаемым способом стекла использовали для приготовления мазков-отпечатков с тканей опухоли молочной железы, имеющей скirroзное строение.

Для сравнения качества мазков-отпечатков использовали стекла, приготовленные традиционным способом: обезжиренные спирто-эфирной смесью и высушенные при комнатной температуре.

ВУ 11400 С1 2008.12.30

Подготовленные стекла приложили к срезам опухоли молочной железы (медкарта № 386/24). Стекла окрасили, провели цитологический анализ с включением таких показателей, как количество кластеров в поле зрения, количество клеток в кластере. В результате мазок-отпечаток на стеклах, подготовленных по предлагаемому способу, имел на 10 % больше кластеров, чем мазок-отпечаток, подготовленный по стандартной методике. Количество клеток в кластере на стеклах, приготовленных по предлагаемому способу, оказалось на 15 % больше, чем на мазках-отпечатках, подготовленных традиционным способом.

Предлагаемый способ подготовки предметных стекол дает возможность повысить информативность цитологических исследований операционного материала, в том числе срочных интраоперационных биопсий, что достигается высокой адгезией клеток и неклеточных структур на поверхности предметного стекла с сохранением органотипического строения.

Источники информации:

1. Полонская Н.Ю., Егорова О.В. Основы цитологической диагностики и микроскопическая техника. - М.: Издательский центр "Академия", 2005. - 160 с.

2. Immunohistochemistry. Catalog 1996-1997: Catalog / Immunotech, A Coulter company. - 1996, p. 64.